APROS-V9.5

Defansif Yayın ve Prior Art Dokümanı

Sürüm 9.5

Yayın Tarihi 21 haziran 2026

Yayınlayan Muzaffer Enes Yünlü — Bağımsız Araştırmacı

Lisans CC BY-NC-SA 4.0

YASAL UYARI: Bu doküman, yayınlandığı tarih itibarıyla kamuya açık yazılı bir teknik dokümandır.

Patent hukuku uyarınca ön bulgu (prior art) teşkil eder. Bu dokümanda tanımlanan her bir teknik

özellik, bağımsız olarak prior art niteliği taşır.

1. ÖZGÜN HİPOTEZ: İHTİYAÇ ANINDA RESETLEME (ON-DEMAND

RESET)

Literatürdeki tüm epigenetik reset protokolleri Yamanaka faktörlerini sabit zaman aralıklarıyla uygular.

APROS'un özgün hipotezi: Epigenetik reset (F2), sabit aralıklarla değil, Phi_trigger > Gamma koşulu

sağlandığında otomatik tetiklenmelidir. Bu hipotez literatürde bulunmamaktadır ve APROS-V9.5'e

özgüdür.

I. TANIMLAR VE KAPSAM

Terim Tanım

Hedef Hasta Popülasyonu İnsan (Homo sapiens), >60 yaş veya kronik hastalık (kanser, nörodejenerasyon, metabolik sendrom) tanısı almış bireyler

Uygulama Ex vivo (PBMC, T hücresi, MSC) veya in vivo (intravenöz, subkutan, intratekal)

APROS Adaptif Performans ve Rekürsif Onarım İşletim Sistemi

Kapsam Notu Bu dokümanda tanımlanmayan hiçbir özellik için prior art iddiasında bulunulmaz

II. KOMBİNATORYAL HEDEFLEME MATRİSİ

2.1. Pozitif Hedefleme Ligandları (7 doku x 7 ligand)

Doku Ligandlar

Nöral NCAM, TrkB, mGluR5, Synaptotagmin-1, N-Cadherin, L1CAM, GLAST

Kas Integrin alfa7beta1, Dystroglycan, GLUT4, IGF-1R, Cav3, M-cadherin, Myomaker

Metabolik ASGPR, GLP-1R, LDLR, İnsülin Reseptörü, GCGR, AdipoR1, GLUT2

İmmün CD3, CD14, Siglec-1, CD19, CD4, CD8, CD206

Bariyer/Diğer ACE2, VEGFR2, Megalin, E-Cadherin, Podocalyxin, Claudin-5, ZO-1

2.2. Negatif Seleksiyon Ligandları (8 adet - SOMUT)

Hedef Doku (dışı) Ligand Sekans/Yapı

Karaciğer dışı GalNAc-ASGPR antagonisti GalNAc-beta1,4-GlcNAc (üçlü kümelenmiş), PEG2000 bağlı

Kas dışı Myomaker inhibitör peptid Ac-RVPPRLSC-NH2 (SEQ ID NO: 1)

Nöral dışı L1CAM bloke edici L1CAM Ig1-2 domainine bağlanan nanobody/affimer/DARPin/antikor fragmanı

Endotel dışı Claudin-5 antagonist peptid Ac-FEIDP-amide (SEQ ID NO: 2)

İmmün dışı CD47 aktive edici peptid Ac-RFYVDP-amide (SEQ ID NO: 3)

Tümör dışı Fosfatidilserin maskeleyici PEG2000-DSPE

Pankreas beta dışı GLP-1R bloke edici peptid Exendin-9-39 (SEQ ID NO: 4)

Kardiyomiyosit dışı Cav3 antagonisti Ac-RRWRLR-amide (SEQ ID NO: 5)

SEQUENCE LISTING

SEQ ID NO Ad Sekans

1 Myomaker inhibitör peptid Ac-RVPPRLSC-NH2

2 Claudin-5 antagonist peptid Ac-FEIDP-amide

3 CD47 aktive edici peptid Ac-RFYVDP-amide

4 GLP-1R bloke edici peptid HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGR-amide

5 Cav3 antagonisti Ac-RRWRLR-amide

6 L1CAM bloke edici nanobody EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYEMHWVRQTPEKGLEWVG

AIDPETGGTAYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMHLKSLTSEDSAVYYCTRGARYGYDDYWGQGTTVTVTS

Kombinasyonlar: Pozitif 91 adet (C(7,2)+C(7,3)+C(7,4)), Negatif 256 adet (2^8), Toplam adresleme şifresi: 23.296

III. DİNAMİK EŞİK FONKSİYONU

3.1. 18 Biyobelirteç

Kategori Biyobelirteç Ölçüm Yöntemi

Senesans p16, p21, p53, Ki67 qPCR veya ELISA

DNA hasarı gammaH2AX, 8-OHdG, Telomer uzunluğu Floresan antikor / ELISA / qPCR

Oksidatif stres ROS (H2O2), RNS, NAD+/NADH Amplex Red / DAF-FM DA / döngü kiti

Metabolik ATP/ADP, p-mTOR, p-AMPK, GLUT4 Luminometrik / fosfo-antikor / qPCR

İnflamasyon IL-6, TNF-alfa, IL-10 ELISA

Epigenetik 5mC/5hmC oranı HPLC-MS

3.2. Dinamik Eşik Fonksiyonu

Phi = Sum(n=1..18) w_n * sigma((B_n - theta_n)/alpha_n) * (1 + beta_n * (dB_n/dt)/(dB_n/dt)_max)

sigma(x) = 1/(1+exp(-x))

Tetikleme: IF (Phi > Gamma) AND (min_n((dB_n/dt)/alpha_n) > -Delta) THEN baslat

3.3. Parametre Aralıkları

Parametre Aralık Varsayılan

theta_n 0.001-1000 F0'da belirlenir

alpha_n 0.1-10.0 1.0

beta_n 0-1 0.3

w_n 0-1 1/18

Gamma 0-1 0.6

Delta 0-1 0.1

3.4. F0'da theta_n Belirleme Yöntemi (SOMUT)

theta_n = saglikli kontrol populasyonu ortalamasi + 2 x standart sapma

Baslangic w_n = 1/18 (tum biyobelirtecler esit agirlikli)

IV. MÜDAHALE FAZLARI (F1-F5)

4.1. Aktif Maddeler

Faz Ajan Doz Taşıyıcı

F1 Navitoclax (ABT-263) 25 mg/kg Galaktoz-LNP

F1 (alt) Nutlin-3a 10 mg/kg Galaktoz-LNP

F2 OSKM modRNA 0.5 mg/kg LNP

F2 (alt) OSK modRNA 0.5 mg/kg LNP

F3 NAD+ 200 mg/kg LNP

F3 (alt) Nikotinamid 100 mg/kg Oral/LNP

F4 Urolithin A 500 mg Oral/LNP

F4 (alt) FGF21 1 mg/kg LNP

F5 IL-10 modRNA 0.3 mg/kg LNP

F5 (alt) Düşük doz IL-2 1.5 milyon IU Enjeksiyon

4.2. LNP Formülasyonu (SOMUT)

Bilesen (molar oran):

DSPC : %25

Kolesterol : %40

DOPE : %25

GalNAc-PEG2000-DSPE : %10

Fiziksel ozellikler:

Partikul boyutu : 80 +/- 20 nm (DLS)

PDI : < 0.2

Zeta potansiyeli : -10 +/- 5 mV

Hazirlama Protokolu (SOMUT):

1. Lipid fazi: DSPC+Kol+DOPE+GalNAc-PEG2000-DSPE ethanol icinde coz (4:1 etanol:su)

2. Tampon: 25 mM sodyum asetat pH 4.0, 300 mOsm

3. Karistirma: Mikrofluidiik (Ignite/NanoAssemblr), akis hizi 3:1 (su:etanol), 1 mL/dak

4. Diyaliz: 1x PBS pH 7.4, 4 saat, 2000 MWCO membran

5. Filtrasyon: 0.22 um PES filtre (sterilizasyon)

6. Saklama: -80 degC, %10 sakkaroz kriyoprotektan

4.3. modRNA Protokolü (SOMUT)

Yapi (5' -> 3'):

[CleanCap AG] - [alfa-globin 5' UTR] - [OSKM/OSK] - [alfa-globin 3' UTR] - [polyA(120)]

Nukleotidler:

ATP, CTP, GTP : standart

UTP yerine : N1-metil-pseudo-UTP (tamamen ikame, %100)

IVT Reaksiyon Kosullari (SOMUT):

T7 RNA polimeraz | 37 degC, 2 saat | MgCl2: 24 mM

Spermidine: 2 mM | DTT: 10 mM | NTP: her biri 7.5 mM

Saflaştirma:

Yontem A: LiCl cokturmesi (2.5M LiCl, -20 degC, 30 dak, 14000xg 15 dak)

Yontem B: HPLC (C18 ters faz, 0.1M TEAA, asetonitril gradyeni %5->%30, 260 nm)

Saflik esigi:

dsRNA kontaminasyon : < %0.1 (J2 antikor ELISA)

Protein : < 1 EU/mg (LAL testi)

Integrite : > %90 (biyoanalizor kapiller elektroforez)

4.4. Faz Sıralaması (5! = 120 permütasyon - TAMAMI)

Sıralama 1: F1 → F2 → F3 → F4 → F5 | Sıralama 120: F5 → F4 → F3 → F2 → F1 | 2-119: tüm ara permütasyonlar. Her faz: 1-336 saat (1 saat artışla). Washout: 24 saat (zorunlu). Dinlenme: 48/72/96/120/144/168 saat.

Döngü sayısı: 1-10 arası tam sayı.

4.5. Ex Vivo Uygulama Protokolü (SOMUT - Enablement Eklemesi)

PBMC Izolasyonu:

1. Periferik kan (50 mL) EDTA tuplere al
2. Ficoll-Paque (1.077 g/mL) ile yogunluk gradyeni: 400xg, 30 dak, 20 degC
3. Buffy coat topla, 2x PBS ile yika (300xg, 10 dak)
4. Hucre sayimi: hemositometre veya otomatik sayici
5. Yasayabilirlik: tripan mavisi > %95

Transfeksiyon:

- Hucre yogunlugu : 1x10^6 hucre/mL
- modRNA/LNP orani : 0.5 ug modRNA / 10^6 hucre
- Inkubasyon : 37 degC, %5 CO2, 4 saat
- Yikama : 2x PBS (300xg, 5 dak)

Biyobelirtec Olcumu (F0):

- RNA : RNeasy Mini Kit, RIN > 8
- Protein: BCA protein tayini + Western/ELISA
- Sure : 24-72 saat

V. YAMANAKA KOMBİNASYONLARI (27 REJİM)

Tip Kombinasyonlar

7'li OSKMLNE

6'lı OSKMLN

5'li OSKMN, OSKML, OSKME

4'lü OSKM, OSKL, OSKN, OSKE, OSMN, OKMN, SKMN, OSLN

3'lü OSK, OKM, SKM, OSL, OKL, OML, SKL, SML, KML

2'li OS, OK, OM, SK, SM, KM

1'li O, S, K, M

Süre seçenekleri: 24, 48, 72, 96 saat

VI. KILL-SWITCH (4 KATMAN)

Mekanizma Tetikleyici Referans

1 FKBP12(F36V) degron Zaman > 24 saat Nabet 2018

2 Doku miRNA (miR-122/-1/-124/-142) Yanlış doku miRBase

3 dCAS9-KRAB İstenmeyen ekspresyon Gilbert 2013

4 Hücre içi sensör p53>lambda1, ROS>lambda2, ATP<lambda3 Bölüm III

Kill-switch eşik değerleri (SOMUT): lambda1 (p53): sağlıklı kontrol ortalaması + 3 SD (>=2 kat baz düzeyi). lambda2 (ROS): H2O2 eşdeğeri > 50 uM (Amplex Red). lambda3 (ATP): ATP/ADP oranı < 1.0 (baz düzeyinin %30 altı). Kombinasyonlar: 1-4 arası herhangi alt küme (toplam 15 kombinasyon) prior art kapsamındadır.

VII. F0: ZORUNLU TANISAL HARİTALAMA

Adım İşlem Süre

1 Kan veya doku biyopsisi 1-2 saat

2 18 biyobelirteç ölçümü (Bölüm III) 4-8 saat

3 RNA-seq (transkriptom) 24-48 saat

4 LC-MS/MS (proteom) 24-48 saat

5 NMR/LC-MS (metabolom) 12-24 saat

6 theta_n ve w_n belirlenmesi 2-4 saat (hesaplama)

Toplam F0 süresi: 24-72 saat

Örnek F0 Çıktısı - Hipotetik 68 Yaşındaki Hasta (SOMUT)

Biyobelirtec | Hasta | Saglikli Ort. | +2SD Esik | Durum

----------|--------|--------------|----------|-------

p16 | 4.2 | 1.0 | 2.4 | YUKARI

p21 | 3.1 | 1.0 | 2.2 | YUKARI

p53 | 1.8 | 1.0 | 2.0 | NORMAL

Ki67 | 0.3 | 1.0 | 0.4 | NORMAL

gammaH2AX (foci) | 8.2 | 2.1 | 5.0 | YUKARI

8-OHdG (ng/mL) | 12.4 | 4.0 | 9.2 | YUKARI

Telomer (kb) | 4.8 | 8.0 | 5.5 | ASAGI

ROS (uM H2O2) | 38.0 | 12.0 | 28.0 | YUKARI

NAD+/NADH | 2.1 | 6.0 | 4.0 | ASAGI

ATP/ADP | 3.2 | 8.0 | 5.5 | ASAGI

IL-6 (pg/mL) | 18.4 | 4.0 | 10.0 | YUKARI

5mC/5hmC | 0.85 | 0.50 | 0.72 | YUKARI

Phi hesabi: w_n=1/18 ile Phi ~ 0.73 > Gamma(0.6) => F1 tetikle

VIII. ÖĞRENEN SİSTEM

w_n^(k+1) = w_n^(k) + eta * (hedef_B_n - gerceklesen_B_n) * gerceklesen_B_n

eta = 0.1 (ogrenme orani)

Uygulama: Python, MATLAB veya Excel ile harici bilgisayarda hesaplanir.

Platform notu: Bulut, yerel script veya spreadsheet -- hepsi prior art kapsamindadir.

IX. HUKUKİ BEYAN

9.1. Prior Art Statüsü

Bu doküman, 21 haziran 2026 tarihinde Zenodo üzerinden kamuya açıklanmıştır (DOI: 10.5281/zenodo.19428077). Bölüm II-VIII'deki tüm teknik özellikler prior art teşkil eder.

9.2. Enablement

Bir moleküler biyolog veya biyomühendis, bu dokümanda verilen bilgilerle sistemi aşırı deney yapmadan uygulayabilir. Enablement kapsamı:

• Ligand gen/adları ve negatif ligand sekansları (SEQ ID NO: 1-6)

• L1CAM hedefleme domain tanımı (Ig1-2 domaini)

• LNP formülasyonu: molar oranlar, boyut, zeta, hazırlama protokolü, saklama koşulları

• modRNA protokolü: CleanCap AG, N1-metil-pseudo-UTP, 120 nt polyA, IVT koşulları, saflık eşiği

• Ölçüm yöntemleri (jenerik + örnek katalog)

• theta_n belirleme yöntemi (ortalama + 2SD)

• Algoritma denklemi ve parametreleri

• Kill-switch lambda1/lambda2/lambda3 eşik değerleri (SOMUT)

• Ex vivo uygulama protokolü: PBMC izolasyonu, transfeksiyon koşulları

• Örnek F0 çıktısı (hipotetik hasta verisi ile somut gösterim)

9.3. Kapsam Dışı

• Ligandların kimyasal sentezi (standart literatür)

• Belirli bir hücre hattında çalışıp çalışmadığı (fonksiyonel testler)

X. SONUÇ VE ÖZELLİK ÖZETİ

Özellik Değer

Hasta popülasyonu 60 yaş veya kanser/nörodejenerasyon/metabolik sendrom

Pozitif ligand 49

Negatif ligand (sekanlı) 8 (SEQ ID NO: 1-6 dahil)

Adresleme kombinasyonu 23.296

Biyobelirteç 18

Faz sıralaması 120

LNP formülasyonu %25/40/25/10, 80+/-20 nm, pH 4.0 asetat tamponu

LNP hazırlama Mikrofluidiik, 3:1 su:etanol, -80 degC %10 sakkaroz

modRNA protokolü CleanCap AG, N1-metil-pseudo-UTP, 120 nt polyA, 37 degC 2 saat IVT

dsRNA eşiği < %0.1 (J2 antikor ELISA)

Yamanaka kombinasyonu 27

Kill-switch katmanı 4 (15 alt küme), lambda1/lambda2/lambda3 somut

Öğrenme oranı eta = 0.1

theta_n belirleme Ortalama + 2SD

Ex vivo protokol Ficoll izolasyonu + 0.5 ug modRNA/10^6 hucre

Bu dokümanda tanımlanan herhangi bir özelliği içeren patent başvuruları, bu dokümanın yayın tarihi itibarıyla yenilik kriterini karşılamaz ve buluş basamağı iddiaları aşikâr varyasyon nedeniyle geçersizdir.

Muzaffer Enes Yünlü - Bağımsız araştırmacı | 21 haziran 2026